

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **05051305 A**(43) Date of publication of application: **02 . 03 . 93**

(51) Int. Cl

**A01N 63/00**  
**A01N 25/08**  
**A01N 37/44**  
**A01N 63/02**  
**C09K 17/00**  
**C12N 1/20**

(21) Application number: **03213564**(22) Date of filing: **26 . 08 . 91**(71) Applicant: **SUMITOMO CHEM CO LTD**

(72) Inventor: **FUSHIMI SUSUMU**  
**OKADA AKIHIKO**

(54) **METHOD FOR CONTROLLING DISEASE INJURY  
 OF PLANT WITH SC-3 STRAIN BELONGING TO  
 GENUS BACILLUS**

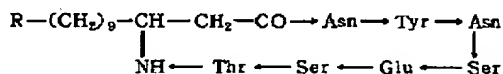
microorganism material or a soil improving material.

COPYRIGHT: (C)1993,JPO&amp;Japio

(57) Abstract:

PURPOSE: To obtain a method for controlling disease injury of plant, having excellent effects on disease injury of plants, belonging to various kinds of fungi by using a certain bacterium belonging to the genus *Bacillus* as an agricultural and horticultural disease injury controller.

CONSTITUTION: Pathogenic fungi of plant belonging to fungi, of which living land or plants damaged by the fungi are treated by using an agent comprising an effective application amount (usually about 0.1-10,000g, preferably about 10-1,000g calculated as wet weight based on 10 ares) of *Bacillus subtilis* SC-3 (FERM P-11,396) or its variant, especially producing a cyclic peptide-based compound shown by the formula (R is isopropyl or 2-methylbutyl) or an agent comprising the effective application amount of the *Bacillus subtilis*, an additive and/or a carrier. Preferably seeds of plant are coated with the agent to effectively control disease injury of plant. The bacterium may be added to a



(19)日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-51305

(43)公開日 平成5年(1993)3月2日

(51)Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 0 1 N 63/00	F	7106-4H		
25/08		6742-4H		
37/44		8930-4H		
63/02	E	7106-4H		
C 0 9 K 17/00	Z	6742-4H		

審査請求 未請求 請求項の数 5 (全 9 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願平3-213564

(22)出願日 平成3年(1991)8月26日

(71)出願人 000002093

住友化学工業株式会社

大阪府大阪市中央区北浜4丁目5番33号

(72)発明者 伏見 進

兵庫県宝塚市高司4丁目2番1号 住友化学工業株式会社内

(72)発明者 岡田 明彦

茨城県つくば市北原6 住友化学工業株式会社内

(74)代理人 弁理士 諸石 光▲ひろ▼ (外1名)

(54)【発明の名称】 バチルス属に属するSC-3菌株による植物病害防除方法および使用される細菌

(57)【要約】

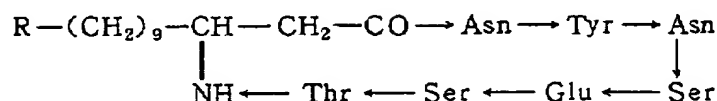
【構成】 バチルス スプチルス SC-3 (*Bacillus subtilis* SC-3) (微工研寄第11396号)を有効な施用量を用いてまたは該有効施用量に加えて添加剤および/または担体を含む製剤を用いてかび類に属する植物病害菌および/またはそれらの生息地ならびに/もしくはそれが加害する植物に処理することを特徴とする植物病害防除方法および使用される細菌。

【効果】 各種のかび類に属する植物病害菌に対してすぐれた効果を有し、農園芸植物病害防除剤の用途に供し得る。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】バチルス スブチルス SC-3 (*Bacillus subtilis* SC-3) (微工研寄第11396号)を有効な施用量を用いてまたは該有効施用量に加えて添加剤および/または担体を含む製剤を用いてかび類に属する植物病害菌および/またはそれらの生息地ならびに/もしくはそれが加害する植物に処理することを特徴とする植物病害防除方法。

【請求項2】バチルス スブチルス SC-3 (*Bacillus subtilis* SC-3) (微工研寄第11396号)およびその変異体。



【式中、Rはイソプロピル基または2-メチルブチル基を表す。】で示される環状ペプチド系化合物を生産するバチルス属に属する細菌を有効な施用量を用いてまたは該有効施用量に加えて添加剤および/または担体を含む製剤を用いてかび類に属する植物病害菌および/またはそれらの生息地ならびに/もしくはそれが加害する植物に処理することを特徴とする植物病害防除方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、バチルス属に属するSC-3菌株による植物病害防除方法および使用される細菌に関する。

## 【0002】

【従来の技術】植物病害の防除方法の主たるものとして、薬剤による防除方法があり、そのなかには微生物の生産する抗生物質、たとえばカスガマイシン、ポリオキシン等を利用する方法があり、既に実用化されている。

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、微生物の生産する抗生物質の効果は微生物の培養物より分離して施用した場合の効果であって、微生物自体を植物に施用し、植物病害を防除する効果ではない。このように微生物自体を植物に施用し、植物病害を防除する試みは未だ実用的には必ずしも常に充分なものであるとはいえない。

【請求項3】バチルス スブチルス SC-3 (*Bacillus subtilis* SC-3) (微工研寄第11396号)およびその変異体を植物の種子にコート処理することを特徴とする請求項1記載の植物病害防除方法。

【請求項4】バチルス スブチルス SC-3 (*Bacillus subtilis* SC-3) (微工研寄第11396号)およびその変異体を包有することを特徴とする微生物資材または土壌改良資材。

【請求項5】一般式 化1

【化1】

い。一方、殺菌剤の効果がない病害は難防除病害として防除の手立てがないまま取り残され問題となっている。また環境への影響や薬剤耐性を獲得した菌の出現の恐れも出て来ている。

## 【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記の状況を鑑み、よりすぐれた植物病害防除方法を見い出すべく鋭意検討を重ねた結果、バチルス属に属するある種の細菌が、すぐれた植物病害防除効果を有することを見出し、本発明を完成した。すなわち、本発明は、バチルス スブチルス SC-3 (*Bacillus subtilis* SC-3) (微工研寄第11396号)を有効な施用量を用いてまたは該有効施用量に加えて添加剤および/または担体を含む製剤を用いてかび類に属する植物病害菌および/またはそれらの生息地ならびに/もしくはそれが加害する植物に処理することを特徴とする植物病害防除方法および使用される細菌を提供するものである。

【0005】本発明に用いられる細菌は、兵庫県加西市の一土壌より分離された微生物であり、菌株コード番号をSC-3と命名した。下記の表1にSC-3の分類学的性状を示す。

## 【0006】

【表1】

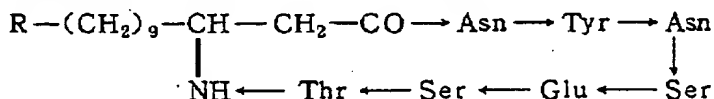
(表1) : SC-3の分類学的性状

形態	桿 菌
グラム染色性	+ (陽性)
芽胞	
孢子囊	非膨出
形	楕円形
位置	中立-亜端立
カタラーゼ反応	+ (陽性)
運動性	+ (あり)
V-P反応	+ (陽性)
V-PブロスのpH	5.7
嫌気下での生育	- (なし)
デンプン分解性	+ (陽性)
ゼラチン液化性	+ (陽性)
卵黄反応	- (陰性)
グルコースより酸の産生	+ (あり)
グルコースよりガスの産生	- (なし)
pH5.7での生育	+ (あり)
50℃での生育	+ (あり)
55℃での生育	- (なし)
クエン酸塩の利用	+ (あり)
5%NaCl存在下での生育	+ (あり)
7%NaCl存在下での生育	+ (あり)
硝酸塩還元性	+ (陽性)

【0007】上記の分類学的性状によりSC-3はバチルス・ズブチリス (*Bacillus subtilis*) と同定された。該菌株は工業技術院微生物工業技術研究所に平成2年4月2日付で微生物寄託番号「微工研菌寄第11396号 (FERM P-11396)」として寄託されている。以下、該

細菌を本発明細菌と記す。本発明細菌は、下記の一般式化2で示される新規な環状ペプチド系化合物を生産する。

【0008】一般式 化2  
【化2】



【0009】〔式中、Rはイソプロピル基または2-メチルブチル基を表す。〕で示される環状ペプチド系化合物。ここで、Asnとはアスパラギンを、Tyrとはチロシンを、Thrとはスレオニンを、Serとはセリンを、Gluとはグルタミン酸を表し、矢印(→)はカルボキシル基からアミノ基の結合を表す。

【0010】以下に物理化学的性質を示す。

(1) Rがイソプロピル基である化合物

分子量：1034

質量分析：低分解能 FAB-MS

1035 (M+H)<sup>+</sup>

1057 (M+Na)<sup>+</sup>

分子式：C<sub>47</sub>H<sub>74</sub>N<sub>10</sub>O<sub>16</sub>

紫外吸収スペクトル：メタノール中で215nm、275nmに極大吸収を示す。

比旋光度：〔α〕<sub>D</sub><sup>25</sup>=15.8° (c0.11, メタノール)

溶解性：メタノール・水可溶、ヘキサン難溶

【0011】(2) Rが2-メチルブチル基である化合物

分子量：1062

質量分析：低分解能 SI-MS

1085 (M+Na)<sup>+</sup>

分子式：C<sub>49</sub>H<sub>78</sub>N<sub>10</sub>O<sub>16</sub>

紫外吸収スペクトル：メタノール中で215nm、275nmに極大吸収を示す。

比旋光度：〔α〕<sub>D</sub><sup>25</sup>=+13.5° (c0.31, メタノール)

溶解性：メタノール・水可溶、ヘキサン難溶

【0012】本発明細菌によって上記の化合物を生産させるためには、たとえばフラスコ当たり200mlの培地(可溶性デンプン20g、グルコース10g、大豆粉20g)を含む3つの邪魔板付500mlエルレンマイヤー

フラスコに植菌後、振幅5cm、回転数150rpmの回転振盪機上で28℃、2日間培養すればよい。

【0013】上記の化合物の検出は、各種の機器分析を利用することができるが、たとえば、下記での条件で高速液体クロマトグラフィー（以下、HPLCと記す。）が有効である。

カラム：Senshu Pak ODS-R51-SH（センシュー科学製）4.6mm×250mm

移動相：アセトニトリル：25mM 酢酸アンモニウム＝4：6

流速：1.5ml/分、温度：室温

検出器：紫外吸光度計（UV）215nm

保持時間：Rがイソプロピル基である化合物 2.9分

Rが2-メチルブチル基である化合物 5.7分

【0014】該化合物は抗かび活性を有し、たとえばトマト輪紋病原菌（*Alternaria solani*）、キュウリ灰色かび病菌（*Botrytis cinerea*）、ラッカセイ褐斑病菌

（*Cercospora arachidicola*）、トマト萎凋病菌（*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*）、オオムギ斑葉病菌（*Helminthosporium gramineum*）、キュウリ苗立枯病菌（*Pythium aphanidermatum*）、ムギ類眼紋病菌（*Eudocercospora herpotrichoides*）、芝生ラージパッチ病菌（*Rhizoctonia solani*）、コムギふ枯病菌（*Septoria nodorum*）、オオムギ裸黒穂病菌（*Ustilago nuda*）、リンゴ黒星病菌（*Venturia inaequalis*）、ナス半身萎凋病菌（*Verticillium albo-atrum*）等の農園芸植物病害菌や工業カビJIS 5-1（*Chaetomium globosum*）、工業カビJIS 2-2（*Penicillium luteum*）等の工業上有害菌等の広い範囲のかび類に対して効果を発揮する。なお、公知の種であるバチルス・ズブチリスにおいて、上記の化合物を生産することは未だ報告されておらず、この点において該同種内公知菌株と明確に区別できる。したがってSC-3はバチルス・ズブチリスの新菌株と認められる。本発明において利用できるのはSC-3のみに限定されるものではなく、SC-3より誘導された変異株、細胞融合株および遺伝子組み換え株も利用が可能であり、さらには該化合物を生産するバチルス属（*Bacillus*）に属する菌株すべてを包含するものである。

【0015】SC-3の培養は一般細菌における通常の培養方法に準じて行われ、固体培養または液体培養（試験管振盪培養、往復式振盪培養、回転振盪培養、ジャーファクター（jar fermenter）培養、培養タンク（fermentation tank）等）いずれも可能である。培養培地としては各種の炭素源、窒素源および有機ないし無機塩を適宜に組み合わせて用いることができる。一般には炭素源としては、グルコース、デンプン、グリセリン、デキストリン、シュクロース、動植物油等があげられ、窒素源としては、酵母エキス、大豆粉、コーン・スチープ・リ

カー（corn steep liquor）、小麦胚芽、肉エキス、ペプトン等の有機窒素源、硝酸ナトリウム、硝酸アンモニウム、硫酸アンモニウム、酢酸アンモニウム等の無機窒素源、またはそれらの混合があげられる。有機ないし無機塩としては酢酸ナトリウム等の酢酸塩、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム等の炭酸塩、塩化ナトリウム、塩化カリウム等の塩化物、リン酸水素1カリウム、リン酸水素2カリウム、リン酸水素1ナトリウム、リン酸水素2ナトリウム等のリン酸塩、硫酸第一鉄、硫酸亜鉛、硫酸マンガン、硫酸銅等の硫酸塩等をあげることができる。培養温度は微生物が生育する範囲で適宜変更できるが、好ましくは20℃～40℃の範囲である。培養は好気的条件下で行われる。特にジャーファクターや培養タンクを使用する場合、無菌空気を導入する必要があり、通常、培養液量の0.1～2倍/分の通気条件を用いる。

【0016】本発明の植物病害防除方法において、防除の対象となるかび類に属する植物病害菌の具体例としては、たとえば、以下のものがあげられる。イネのいもち病菌（*Pyricularia oryzae*）、紋枯病菌（*Rhizoctonia solani*）、ごま葉枯病菌（*Cochliobolus miyabeanus*）、リンゴの黒星病菌（*Venturia inaequalis*）、腐らん病菌（*Valsa ceratos perma*）、斑点落葉病菌（*Alternaria mali*）、ナシの黒斑病菌（*Alternaria kikuchiana*）、黒星病菌（*Venturia nashicola*）、カンキツの黒点病菌（*Diaporthe citri*）、緑かび病菌（*Penicillium digitatum*）、青かび病菌（*Penicillium italicum*）、モモのフォモプシス腐敗病菌（*Phomopsis* sp.）、カキの炭そ病菌（*Gloeosporium kaki*）、落葉病菌（*Cercospora kaki*、*Mycosphaerella nawae*）、ブドウの晩腐病菌（*Glomerella cingulata*）、灰色かび病菌（*Botrytis cinerea*）、ムギの裸黒穂病菌（*Ustilago nuda*）、葉枯病菌（*Septoria tritici*）、ふ枯病菌（*Leptosphaeria nodorum*）、眼紋病菌（*Pseudocercospora herpotrichoides*）、うどんこ病菌（*Erysiphe graminis*）、さび病菌（*Puccinia graminis*, p. *striiformis*, p. *recondita*）、網斑病菌（*Pyrenophora teres*）、雲形病菌（*Phycothosporium secalis*）、斑葉病菌（*Helminthosporium gramineum*）、ウリ類の炭そ病菌（*Colletotrichum lagenarium*）、つる枯病菌（*Mycosphaerella melonis*）、うどんこ病菌（*Sphaerotheca fuliginea*）、つる割病菌（*Fusarium oxysporum*）、トマトの輪紋病菌（*Alternaria solani*）、葉かび病菌（*Cladosporium fulvum*）、ダイコンの黒すす病菌（*Alternaria brassicicola*）、インゲンの根腐病菌（*Fusarium solani*）、ナスの半身萎凋病菌（*Verticillium albo-atrum*）、タバコの赤星病菌（*Alternaria longipes*）、炭そ病菌（*Colletotrichum tabacum*）、テンサイの褐斑病菌（*Cercospora beticola*）、ジャガイモの夏疫病菌（*Alternaria solani*）、ラッカセイの褐斑病菌（*Cercospora arachidicola*）、ダイズの褐紋病菌（*Se*

ptoriaglycines)、黒点病菌 (*Diaporthe phaseololu* m)、炭そ病菌 (*Colletotrichum* sp.)、紫斑病菌 (*Cercospora kikuchii*)、そ菜類、ダイコン類のべと病菌 (*Peronospora brassicae*)、ホウレン草のべと病菌 (*Peronospora spinaciae*)、タバコのべと病菌 (*Peronospora tabacina*)、キュウリのべと病菌 (*Pseudoperonospora cubensis*)、ブドウのべと病菌 (*Plasmopara viticola*)、セリ科植物のべと病菌 (*Plasmopara nivea*)、リンゴ、イチゴ、ヤクヨウニンジンジンの疫病菌 (*Phytophthora racarum*)、トマト、キュウリの灰色疫病菌 (*Phytophthora capsici*)、パイナップルの疫病菌 (*Phytophthora cinnamomi*)、ジャガイモ、トマト、ナスの疫病菌 (*Phytophthora infestans*)、タバコ、ソラマメ、ネギの疫病菌 (*Phytophthora nicotianae* var. *nicotianae*)、ホウレン草の立枯病菌 (*Pythium* sp.)、キュウリの苗立枯病菌 (*Pythium aphanidermatum*)、ダイズの *Pythium rot* 病菌 (*Pythium aphanidermatum*, p. *debarvanum*, p. *irregulare*, p. *myriotylum*, p. *ultimatum*)、果樹の紫紋羽病菌 (*Helicobasidium momp* a)、白紋羽病菌 (*Rosellinia necatrix*)、芝生のラージバッチ病菌 (*Rhizoctonia solani*)、ブラウンバッチ病菌 (*Rhizoctonia solani*)、春はげ病菌・しずみ症菌 (*Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Curvularia*, *Helminthosporium*)、さび病菌 (*Puccinia* spp.)、葉枯病菌 (*Curvularia* spp., *Drechslera* spp., *Blipolaris* spp.)、ビシウムブライト病菌 (*Pythium aphanidermatum*, p. *vanterpoolii*, p. *periplocum*)、ダラスポット病菌 (*Sclerotinia homoeocarpa*)、フェアリーリング病菌 (キノコ類)、雪腐病菌 (*Typhula incarnata*)、発疹性胸枯れ病菌 (*Typhula blight*) 等に効果を発揮する。

【0017】本発明の植物病害防除方法において、用いられる細菌は、他の何らの成分も加えず、そのまま使用してもよいが、たとえば、固体担体、液体担体等の各種担体と混合し、必要あれば添加剤、その他の製剤用補助剤を加えて、水和剤、懸濁剤、粒剤、粉剤、糊状剤、マイクロカプセル剤等に調製した製剤を使用する。

【0018】これらの製剤には、本発明細菌を、通常重量比で約0.1%~95%含有する(本発明細菌は湿重量として)。また、製剤1g当たり約 $10^3$ ~ $10^{10}$ のコロニー形成単位(以下、CFUと記す。)の本発明細菌を含有することが望ましい。

【0019】製剤化の際に用いられる固体担体としては、たとえば鉱物質微粉末(カオリンクレイ、パイロフィライトクレイ、ベントナイト、モンモリロナイト、珪藻土、合成含水酸化珪素、酸性白土、タルク類、セラミック、セリサイト、石英、パーミキュライト、パーライト等)無機塩(硫酸、燐安、硝安、尿素、塩安等)、有機物微粉末(小麦粉、フスマ、キチン、トウモロコシの穂軸、落花生の殻、米糠、こんにゃく粉、脱脂粉乳、全

脂粉乳等)、活性炭、炭酸カルシウム等があげられ、液体担体としては、水、グリセロール、植物油(大豆油、綿実油等)、液体動物油(魚油等)、エチレングリコール、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、ポリプロピレングリコール等があげられる。

【0020】固着剤や分散剤等の製剤用補助剤としては、たとえば、カゼイン、ゼラチン、多糖類(でんぷん粉、アラビアガム、セルロース誘導体、アルギン酸等)、リグニン誘導体、ベントナイト、糖類、植物油、鉱物油、合成水溶性高分子(ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリアクリル酸類等)があげられる。

【0021】その他製剤用補助剤としてはプロピレングリコール、エチレングリコール等の凍結防止剤、シリコン系化合物等の消泡剤、天然多糖類(ゼンサンガム等)、無機物(アルミニウム、マグネシウムシリケート、ベントナイト等)、合成水溶性高分子(ポリアクリル酸等)等の増粘剤をあげることができる。

【0022】また、殺虫剤、殺線虫剤、殺ダニ剤、殺菌剤、除草剤、植物生長調節剤、共力剤、肥料、微生物資材、土壌改良資材(泥炭、腐植酸質資材、ポリエチレンイミン系資材、ポリビニルアルコール系資材等)等と混合して、または混合せずに同時に用いることもできる。ここで微生物資材とは、植物の栽培に資するため土地に施されるものであって、その主原材料が特定の微生物またはその生産する酵素もしくは特定の微生物の活性化をはかるものを、土壌改良資材とは、植物の栽培に資するため土地の性質に変化をもたらすことを目的として土地に施されるものをいう。

【0023】本発明の植物病害防除方法において、用いられる細菌の有効な施用量は、通常、10アールあたり湿重量として約0.1g~約10000gであり、好ましくは約10g~約1000gである。水和剤、懸濁剤、マイクロカプセル剤等を水で希釈して用いる場合は、その施用の細菌濃度は通常、約 $10^3$  CFU/ml~約 $10^{10}$  CFU/mlであり、好ましくは約 $10^3$  CFU/ml~約 $10^8$  CFU/mlである。粒剤、粉剤、糊状剤等は何ら希釈することなく製剤のまま施用する。なお、用いられる細菌の施用量が少量の場合は施用前に前培養を行なうことによって細菌を増殖させたり、または施用後に細菌が細胞分裂ないしは内生胞子からの発芽によって増殖できるようにすることによって有効な植物病害防除を行なうこともできる。また、用いられる細菌は、通常生菌であるが、熱処理等によって死滅された菌でもよい。なお、ここで生菌とは、培養物から濾過や遠心分離等の通常の方法により分離された湿った菌および分離・採取後に乾燥された菌の両者を包含するものである。

【0024】本発明の植物病害防除方法は、茎葉病害だけでなく、土壌病害に対しても効果を有する。土壌病害の場合において、通常行われる粒剤施用方法の他に、た

たとえば本発明細菌を固体担体およびバインダーと呼ばれる固着剤等と混合してもしくは別々に植物の種子にコーティング処理する方法、または肥料、土壌改良資材（泥炭、腐植酸質資材、木炭、ゼオライト、バーミキュライト、パーライト、ベントナイト、ポリエチレンイミン系資材、ポリビニルアルコール系資材等）等と混合して、もしくは混合せずに同時に施用する方法、本発明細菌を固体担体に吸着させ、さらに有機系栄養素（米糠、廃糖蜜、麦芽エキス、アミノ酸等）、肥料成分等を添加してまたは添加せずに得られる微生物資材を使用する方法も用いることができる。このような方法は特にゴルフ場等の芝生や連作傷害の多い野菜の栽培土壌に対して適している。

【0025】これらの施用量、施用濃度は、いずれも製剤の種類、施用時期、施用場所、施用方法、植物病害の種類、被害程度等の状況によって異なり、上記の範囲にかかわることなく増加させたり、減少させたりすることができる。

【0026】

【実施例】以下、本発明の植物病害防除方法に関する製造例、製剤例および試験例により、さらに詳しく説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

【0027】製造例1（分離例）

兵庫県加西市の一土壌を採取し、該土壌を熱処理（80℃、10分間）することにより得られた乾燥土壌1gを滅菌水で懸濁した。該懸濁液を $10^2 \sim 10^4$ 倍に希釈し、寒天平板培地（グリセリン15ml、ペプトン20g、リン酸水素2カリウム1.5g、硫酸マグネシウム・7水和塩1.5g、寒天20g、水で1lとする。pH7.2）で分離培養（28℃、5日間）を行なった。生えた集落を寒天斜面培地（組成は前記の分離用寒天平板培地と同じ）に純粋培養し、4℃で保存した（以下、保存菌と記す。）

【0028】製造例2（培養例）

前培養：本発明細菌の製造例1によって得られた保存菌の一白金耳をフラスコ当たり50mlの肉汁培地（肉エキス10g、ペプトン10g、塩化ナトリウム5g、水で1lとする）を含む3つの邪魔板付き200mlエルレンマイヤーフラスコに植菌後、振幅5cm、回転数150rpmの回転振盪機上で28℃、2日間培養した。

本培養：上記前培養により得られた培養物4mlをフラスコ当たり200mlの培地（可溶性デンプン20g、グルコース10g、大豆粉20g）を含む3つの邪魔板付き500mlエルレンマイヤーフラスコに植菌後、振幅5cm、回転数150rpmの回転振盪機上で28℃、2日間培養した。

【0029】製造例3（調製例）

製造例2によって得られた約1lの培養物を遠心処理（8000rpm、20分間）して、上清と沈殿物に分離し

た。上清を除去後、沈殿物を水で洗浄し、湿重量約53gの本発明細菌を得た。

【0030】製造例4（調製例）

製造例3によって得られた湿重量約16gの本発明細菌を300mlの水に懸濁して、約 $7.0 \times 10^3$  CFU/mlの菌体懸濁液を得た。

【0031】製造例5（調製例）

製造例3によって得られた湿重量約4gの本発明細菌を-80℃で凍結後、減圧下で乾燥して粉碎することにより、乾燥量約2gの粉末乾燥菌体を得た。

【0032】製造例6（調製例）

製造例3によって得られた湿重量約4gの本発明細菌を75mlの水に懸濁した後、該懸濁液をオートクレーブによって熱処理（121℃、20分間）して死菌体懸濁液を得た。

【0033】次に製剤例を示す。なお、部は重量部を表す。

【0034】製剤例1 水和剤

製造例3によって得られる湿重量約10部の本発明細菌を5部の合成含水酸化珪素に混和して、菌体含有の合成含水酸化珪素粉末を得る。この合成含水酸化珪素粉末15部と珪藻土85部をよく混和して菌体含有の水和剤を得る。

【0035】製剤例2 懸濁剤

0.2部のザンサンガム、0.4部のアルミニウムマグネシウムシリケートを100部の水に溶解し、増粘剤溶液を得る。この増粘剤溶液95部と製造例3によって得られる湿重量約5部の本発明細菌をよく混和して菌体含有の懸濁剤を得る。

【0036】製剤例3 懸濁剤

製造例3によって得られる湿重量約10部の本発明細菌にケルザンS（商品名）を0.17部、ビーガムR（商品名）を0.3部、プロキセルGXLを0.2部添加し、87.8部の水を加えてよく混合して菌体含有の懸濁剤を得る。

【0037】製剤例4 粒剤

製造例3によって得られる湿重量約10部の本発明細菌、ベントナイト30部、およびカオリンクレー60部を加えてよく混和した。これに水20部を加えてよく練合した後、直径0.9mmのスクリーンの付いた押し出し造粒機で造粒し、室温で乾燥する。次に、これを1680~500μmに整粒して、粒剤を得る。

【0038】製剤例5 粒剤

製造例3によって得られる湿重量約5部の本発明細菌を水10部に分散させた後、1000~500μmに整粒した粒状のモンモリロナイトクレー85部を加えてよく混合し、含浸させて、粒剤を得る。

【0039】製剤例6 粉剤

製造例3によって得られる湿重量約1部の本発明細菌を、0.5部の合成含水酸化珪素に混合して、菌体含有の合成含水酸化珪素粉末を得る。この粉末1.5部とカオリ

ンクレー98.5部をよく混和して菌体含有の粉剤を得る。

【0040】製剤例7 コーティング種子

225gの平均粒径5 $\mu$ mの珪藻土と製造例3によって得られる湿重量約25gの本発明細菌をよく混和し、これに2gのCMC-（セロゲン6A第一工業製薬）を加え混ぜ合わせ、さらに250gの水を加えよく攪拌してスラリー状の懸濁水溶液を得る。5gのニンジン種子を糖衣用コーティングパンに入れ、外部より50℃にコントロールされる温風を送りながら、502gの上記スラリー状の懸濁水溶液をスプレー（スプレー圧力0.8kg/cm<sup>2</sup>、ノズル径0.5mm）しながら種子をコーティングする。種子の大きさが元の約3倍の大きさにコーティングされたところで転動をやめ、コーティングパンよりコーティング種子を取り出し、35℃で15時間温風乾燥器で乾燥した後、菌体含有のコーティング種子を得る。

【0041】製剤例8 微生物資材

製造例3によって得られる湿重量約5部の本発明細菌に92部のパーミキュライトおよび3部の廃糖蜜をよく混和し、室温で風乾後、微生物資材を得る。

【0042】次に本発明の植物病害防除方法が、かび類に属する植物病害菌に対して防除効果があることを試験例により示す。

【0043】試験例1 イネ紋枯病防除試験

プラスチックポットに砂壤土を詰め、イネ（日本晴）を播種し、温室内で28日間育成した。このようにして栽培したイネの幼苗に、製造例4によって得られた菌体懸濁液を葉面に充分付着するように茎葉散布した。散布後、植物を風乾し紋枯病菌のフスマ培養菌糸を株元に接種した。接種後、28℃、暗黒、多湿下で4日間置いた後、発病状態を肉眼観察することにより防除効力を調査した。結果は70%以上の防除効果を示した。なお、無処理区は0%の防除効果であった。

【0044】試験例2 コムギふ枯病防除試験

プラスチックポットに砂壤土を詰め、コムギ（農林73号）を播種し、温室内で10日間育成した。このようにして栽培したコムギの幼苗に、製造例4によって得られた菌体懸濁液を葉面に充分付着するように茎葉散布した。散布後、植物を風乾しふ枯病菌の胞子懸濁液を噴霧接種した。接種後、15℃、暗黒、多湿下で4日間置き、さらに15℃照明下で7日間生育させて、発病状態を肉眼観察することにより防除効力を調査した。結果は90%以上の防除効果を示した。なお、無処理区は0%の防除効果であった。

【0045】試験例3 トマト疫病防除試験

プラスチックポットに砂壤土を詰め、トマト（ボンテローザ）を播種し、温室内で20日間育成した。第2-3本葉が展開したトマトの幼苗に、製造例4によって得られた菌体懸濁液を葉面に充分付着するように茎葉散布した。散布後、植物を風乾しトマト疫病菌の胞子懸濁液を噴霧接種した。接種後、20℃、多湿下で1日間置いた後、さらに照明下で5日間生育させて、発病状態を肉眼観察することにより防除効力を調査した。結果は70%以上の防除効果を示した。なお、無処理区は0%の防除効果であった。

【0046】試験例4 キュウリ灰色かび病防除試験

プラスチックポットに砂壤土を詰め、キュウリ（相模半白）を播種し、温室内で14日間育成した。子葉が展開したキュウリの幼苗に、製造例4によって得られた菌体懸濁液〔試験（A）〕および製造例6によって得られた死菌体懸濁液〔試験（B）〕を葉面に充分付着するように茎葉散布した。散布後、植物を風乾しキュウリ灰色かび病菌の胞子を含んだ寒天ゲルを接種した。接種後、15℃、暗黒、多湿下で4日間置いた後、発病状態を肉眼観察することにより防除効力を調査した。結果は、試験（A）では完全な防除効果（100%）を示し、試験（B）では90%以上の防除効果を示した。なお、無処理区は0%の防除効果であった。

【0047】試験例5 リンゴ黒星病防除試験

プラスチックポットに砂壤土を詰め、リンゴ（紅玉）を播種し、温室内で35日間育成した。第4-5本葉が展開したリンゴの幼苗に、製造例4によって得られた菌体懸濁液を葉面に充分付着するように茎葉散布した。散布後、植物を風乾しリンゴ黒星病菌の胞子懸濁液を噴霧接種した。接種後、15℃、暗黒多湿下で4日間置いた後、さらに照明下で15日間生育させて、防除効力を調査した。発病状態を肉眼観察することにより結果は90%以上の防除効果を示した。なお、無処理区は0%の防除効果であった。

【0048】試験例6 キュウリ苗立枯病防除試験

苗立枯病菌のフスマ培養物3gを滅菌土壤500mlに混和したのちプラスチックポットに詰め、製造例2によって得られた培養物または製造例4によって得られた菌体懸濁液を30ml灌注した。キュウリ（相模半白）を播種して、23℃、1週間栽培した後、発芽率を調査した。防除効力は発芽率に基づき算出した。結果を表2に示す。なお、無処理区の発病度は75%であった。

【0049】

【表2】

(表2) : キュウリ苗立枯病防除試験

供 試 サ ン プ ル	防除効果 (%)
培 養 物 (製造例2)	76
菌体懸濁液 (製造例4)	71
無 処 理	0

【0050】試験例7 ナス灰色かび病防除試験 (圃場試験)

ナス灰色かび病に対する防除効果をファイロンハウスにおいて試験 (試験区6株植え/区、3反復) した。ナス灰色かび病菌の接種は胞子を着生したナス果実をファイロンハウス内につるすことにより行なった。本発明細菌の処理は、製剤例3によって得られた懸濁液を、水で7.

$0 \times 10^3$  CFU/mlの菌濃度に希釈して、7日間間隔で3回行ない、4週間後に果実の発病率を求めることにより防除効果を調査した。対照薬剤として市販のスミレックス250ppmを用いた。結果を表3に示す。なお、無処理区の発病度は77%であった。

【0051】

【表3】

(表3) : ナス灰色かび病防除試験 (圃場試験)

供 試 サ ン プ ル	防除効果 (%)
懸 濁 剤 (製造例3)	87
ス ミ レ ッ ク ス	86
無 処 理	0

【0052】試験例8 ナシ黒星病防除試験 (圃場試験)

ナシ黒星病に対する防除効果を野外の果樹園において試験 (試験区 3成木/区) した。発病は自然感染とした。本発明細菌の処理は、製造例4によって得られた菌体懸濁液を、7日間間隔で3回行ない、4週間後に果実

および葉の発病率を求めることにより防除効果を調査した。対照薬剤として市販のキノン銅400ppmを用いた。結果を表4に示す。なお、無処理区の発病度は33%であった。

【0053】

【表4】

(表4) : ナシ黒星病防除試験 (圃場試験)

供 試 サ ン プ ル	防除効果 (%)
菌体懸濁液 (製造例4)	80
キ ノ ン 銅	40
無 処 理	0

【0054】試験例9 芝生ブラウンパッチ病防除  
ブラウンパッチ (*Rhizoctonia solani*) が多発しているベントグラスの一部 (2m × 2m) を試験区とした。該試験区に製造例4によって得られた菌体懸濁液を11/m<sup>2</sup>の量で、7日間間隔で2回灌注処理を行ない、3週

間後に発病状態を調査した。結果、病斑の進展は阻止され、しかも病斑部の回復も認められた。

【0055】

【発明の効果】本発明の植物病害防除方法は、かび類に属する植物病害防除にすぐれた効果を有する。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>3</sup>

C12N 1/20

識別記号

庁内整理番号

FI

技術表示箇所

A 7236-4B